


DETERMINACIÓN DE LA EFECTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE DIFERENTES
CONCENTRACIONES DEL HYBENX FRENTE A BIOFILM DE PERIODONTITIS
APICAL

MELISSA GARAY LARA
DANIELA ZÁRATE SEVERICHE

UNIVERSIDAD DE CARTAGENA
FACULTAD DE ODONTOLOGIA
CARTAGENA
2019.



**DETERMINACIÓN DE LA EFECTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE
DIFERENTES CONCENTRACIONES DEL HYBENX FRENTE A
BIOFILM DE PERIODONTITIS APICAL**

AUTORES

MELISSA GARAY LARA

DANIELA ZARATE SEVERICHE

Estudiantes de Odontología de la Universidad de Cartagena

DOCENTE INVESTIGADOR

EDUARDO ENRIQUE COVO MORALES

Odontólogo. Especialista en Endodoncia. Pontificia Universidad
Javeriana

Magíster en Microbiología. Universidad de Cartagena

UNIVERSIDAD DE CARTAGENA

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

CARTAGENA DE INDIAS

2019

Contenido

1. <u>INTRODUCCIÓN</u>	6
2. <u>OBJETIVOS</u>	7
2.1 OBJETIVO GENERAL	
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	
3. <u>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</u>	8
<u>3.1 DEFINICIÓN DEL PROBLEMA</u>	8
<u>3.2 JUSTIFICACIÓN</u>	11
4. <u>ENSAYO</u>	
<u>PRELIMINAR</u>	12
5. <u>MATERIALES Y</u>	
<u>MÉTODOS</u>	13
5.1 <u>METODOLOGÍA</u>	13
5.2 <u>CRITERIOS DE SELECCIÓN Y CONSIDERACIONES ÉTICAS</u>	13
5.3 <u>INSTRUMENTOS</u>	14
5.4 <u>PREPARACIÓN DE MATERIALES</u>	14
5.5 <u>PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO</u>	15
5.6 <u>PROTOCOLO DE TOMA DE MUESTRA</u>	19
5.7 <u>PROTOCOLO MICROBIOLÓGICO</u>	21
5.8 <u>PREPARACIÓN DE SOLUCIONES DE TRABAJO A DIFERENTES</u>	
<u>CONCENTRACIONES</u>	22
5.9 <u>DETERMINACIÓN DE CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA</u>	
<u>(CMI)</u>	22
6. <u>ANÁLISIS ESTADÍSTICO</u>	23
7. <u>RESULTADOS</u>	23

8.	<u>DISCUSION.....</u>	<u>29</u>
9.	<u>CONCLUSIONES.....</u>	<u>34</u>
10.	<u>RECOMENDACIONES.....</u>	<u>35</u>
11.	<u>BIBLIOGRAFIA.....</u>	<u>36</u>

RESUMEN

El objetivo del presente estudio es determinar la efectividad antibacteriana, mediante micro dilución del Hyben X en diferentes concentraciones, tomando las 7 concentraciones oscilantes entre 100% hasta 1,562% en biofilm endodóntico de pacientes diagnosticados con periodontitis apical; Muestras clínicas incubadas y cultivadas en cajas de Petri en laboratorio microbiológico. Se tomaron 5 muestras clínicas de las cuales en el proceso de cultivación e incubación se pudieron identificar en una de ellas la morfología de las bacterias presentes en infección primaria, la concentración mínima inhibitoria del Hyben X se determinó mediante la técnica de microdilución en placas de 96 pozos y los resultados obtenidos en la evaluación de crecimiento bacteriano, actividad bactericida y bacteriostática, fueron analizados y graficados utilizando el software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) versión 20 (IBM®), por medio del cual se realizó un análisis descriptivo en donde obtuvimos frecuencias y porcentajes de los estadísticos previamente descritos. Los resultados obtenidos en este estudio muestran las bacterias tomadas en muestras in vivo bacterias *Gram (-)* (*Porphyromonas*, *Prevotella*, *Tannerella*, *Treponema*, *Campylobacter* y *Veionella*) y *Gram (+)* (*Actinomyces*, *Peptostreptococcus*, *Streptococcus*). El tiempo de incubación para la medición de las pruebas de sensibilidad bacteriana y determinación de la concentración mínima inhibitoria, debe hacerse a las 12 horas. Se determinó que la solución de HybenX® tiene propiedades bactericidas a concentraciones del 100% y 50% y actividad bacteriostática al 25%.

PALABRAS CLAVE: endodoncia, irrigación, HybenX, infección primaria

1. INTRODUCCION

El objetivo final del tratamiento endodónticas es eliminar la infección bacteriana en el sistema del conducto radicular ¹. La completa eliminación de los microorganismos presentes en el sistema de conductos radiculares se torna un trabajo difícil debido a la penetración de los microorganismos en los túbulos destinatarios y la incapacidad de eliminarlos por medio de técnicas de instrumentación tradicional, motivo por el cual se complementa la instrumentación mecánica con compuestos químicos como comúnmente es utilizado el hipoclorito de sodio.

Actualmente se está considerando al HYBEN X como posible compuesto químico que permita cumplir el objetivo final de los tratamientos endodonticos puesto que este es un desecante químico que elimina con seguridad microorganismos y restos de tejido de las áreas de tratamiento sin afectar otras áreas del cuerpo humano. Su acción se basa en la novedosa tecnología de desbridamiento por choque desecante HYBENX® ("DSD") de EPIEN. DSD es un tratamiento innovador para las superficies de tejido infectado basado en una nueva clase única de limpiador no antibiótico que elimina rápidamente el biofilm, a nivel molecular, de las superficies de tejido infectadas. DSD proporciona una acción de limpieza intensa que diferencia entre tejidos sanos infectados y subyacentes. La eliminación de la biopelícula se ha confirmado usando técnicas de análisis de ADN e inmunoquímica. El mecanismo de este proceso de limpieza basado en la desecación es universal, físico y no biológico.

A diferencia de los agentes de limpieza estándar, HYBENX busca, desaloja y destruye rápidamente los patógenos dañinos y la matriz molecular residual en la que viven al contacto. La mayoría de los odontólogos notarán la facilidad de

¹L. Wang et al. Novel bioactive root canal sealer to inhibit endodontic multispecies biofilms with remineralizing calcium phosphate ions / Journal of Dentistry 60 (2017) 25–35

eliminar el cálculo endurecido y la biopelícula de la placa ya que HYBEN X fluye fácilmente en pozos difíciles de alcanzar, bifurcaciones y bolsas profundas para aflojar la carga biológica residual. Es importante destacar que HYBEN X también desbrida, coagula y sella de manera segura cualquier tejido infeccioso sin dañar la mucosa saludable. HYBEN X hace esto apuntando selectivamente al tejido dañado y purificándolo instantáneamente. Esta característica, que es exclusiva de HYBEN X, reduce el sangrado, el dolor del paciente y la carga infecciosa, permite que el cuerpo use sus propias defensas para promover la curación natural.

Actualmente su uso está siendo aplicado en para la eliminación del biofilm de la placa, cuando, a juicio del dentista, un tratamiento coadyuvante de limpieza sea necesario para eliminar el biofilm de la placa, sobre los tejidos gingivales o bolsas periodontales que rodean a /los dientes afectados , pulpa dental o el canal radicular para el tratamiento endodóntico.. Hyben X es un producto tópico de un solo uso indicado como un enjuague, solución que se administra localmente en la cavidad oral. HybenX se administra con una jeringa de irrigación u otros medios elegidos por el dentista. DESCRIPCIÓN: Hyben X, contiene fenoles sulfonados y ácido sulfúrico, que son desnaturalizantes de tejidos, en una solución acuosa. Hyben X es un líquido opaco de color púrpura, semi viscoso.

2. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Determinar la efectividad antibacteriana, mediante micro dilución de diferentes concentraciones del Hyben X en biofilm endodónticas en pacientes diagnosticados con periodontitis apical.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Recolección de muestra y aislamiento de cepas predominantes en biofilm endodónticas en pacientes diagnosticados con periodontitis apical.

- Identificación de cepas predominantes en biofilm endodóntico en pacientes diagnosticados con periodontitis apical.
- Determinar de la concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida de los componentes del Hyben X frente a biofilm endodóntico

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

3.1 Definición de problema

El biofilm es una comunidad microbiana organizada compuesta por una o varias especies de microorganismos, esta se encuentra adherida a una superficie en donde las células se mantienen unidas entre sí gracias a la presencia de una matriz de ex polisacáridos, estas comunidades de microorganismos presentan características como diversidad de microambientes, resistencia a antimicrobianos, concentración de nutrientes y capacidad de comunicación entre las células que la conforman.²

La primera etapa de la formación del biofilm es la adhesión a la superficie, en esta primera etapa las células que intervienen se conocen como pioneras o primeras colonizadoras, esto es seguido por la proliferación celular y agregación generando micro-colonias de anclaje en los sitios de unión. En una etapa posterior las bacterias comienzan a producir una matriz extracelular, después de la colonización de la superficie, los microbios que constituyen el biofilm comienzan a comunicarse entre sí y a coordinar su comportamiento a través de un lenguaje denominado quorum sensing³. En todo este proceso la matriz tiene un papel en la adhesión y la protección, preservando la integridad de la arquitectura del biofilm y evadiendo la

² Abub Kare. Bustos Lorena: Actividad antibacteriana de hybenx® sobre enterococcus faecalis (atcc 29212 ®™). Estudio in vitro.

³ Lázaro Sarduy Bermúdez, María Elena González Díaz: La biopelícula: una nueva concepción de la placa dentobacteriana. Biofilm: a new conception of dentobacterial plaque. Medicentro Electrónica vol.20 no.3 Santa Clara jul.-set. 2016

respuesta inmune del huésped, si no estuviera presente este método de fijación, se daría lugar a la eliminación completa de la biopelícula.⁴

En cuanto a los microorganismos presentes en infecciones endodónticas primarias, es decir en los dientes que no han sido tratados endodónticamente, estos microorganismos pudieron haber estado implicados en la invasión pulpar que conlleva a la inflamación y posterior necrosis pulpar, o bien, llegado después de iniciado el proceso y aprovechando el ambiente que se encuentra al interior del órgano dental; en estas infecciones primarias podemos encontrar múltiples especies de microorganismos predominantemente anaerobios. Las especies bacterianas que se detectan con mayor frecuencia en las infecciones primarias, incluidos los casos abscesificados, pertenecen a diversos géneros de bacterias gramnegativas como *Fusobacterium*, *Dialister*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Tannerella*, *Pyramidobacter*, *Treponema*, *Campylobacter* y *Veillonella* y grampositivas como *Parvimonas*, *Filifactor*, *Pseudoramibacter*, *Streptococcus*, *Propionibacterium*, *Olsenella*, *Actinomyces*, *Peptostreptococcus* y *Eubacterium*.⁵

Microorganismos que recidivan a un tratamiento de conducto o que se introduzcan al interior del canal pueden llegar a causar una infección secundaria o persistente, cuando las bacterias se resisten a los procedimientos terapéuticos, las bacterias grampositivas son las más frecuentes⁶. Los gérmenes grampositivos facultativos o anaerobios que podemos detectar a menudo en esas muestras son *estreptococos*,

⁴ Guilarte, C. , Perrone, M. : Microorganismos de la placa dental relacionados con la etiología de la periodontitis. Volumen 42 N° 3 / 2004.

⁵ Ackermans F., Klein J.P., and Frank R.M.: Ultrastructural localization of immunoglobulins in carious human dentine. Arch Oral Biol 1981; 26: pp. 879.

⁶ Á Rodríguez, et al: Prevalencia de *Enterococcus faecalis* de pacientes que asistan a consulta de endodoncia. 2016

*P. micra, Propionibacterium, P. alactolyticus, Actinomyces, lactobacilos, E. faecalis y Olsenella uli.*⁷

Distintos métodos han sido creados para la eliminación de patógenos dañinos y la matriz extracelular presente en el biofilm ⁸, uno de los más eficientes es el Hyben X.

El HybenX es un líquido semi viscoso, opaco, de color púrpura, que contiene desnaturalizantes de tejidos ⁹, según sus fabricantes es un desecante químico probado que elimina con seguridad los microbios y los desechos de tejidos de las áreas de tratamiento sin afectar otras áreas del microbioma humano. Se basa en la nueva tecnología de desbridamiento de choque de desecación HYBENX® de EPIEN ("DSD") .

El Hyben X presenta características propias de los desecantes de contacto, porque contienen mezclas concentradas de ácido sulfúrico/ sulfónico los cuales tienen una fuerte afinidad por el agua. Contiene una mezcla acuosa concentrada de ácido hidroxibencenosulfónico (37%), ácido hidroximetoxibencenos (23%), ácido sulfúrico (28%) y agua (12%). ^{10 11}

⁷ Giorgos N., et al: Comparison of Bacterial Community Composition of Primary and Persistent Endodontic Infections Using Pyrosequencing. Journal of Endodontics , 2015-08-01, Volumen 41, Número 8, Páginas 1226-1233.

⁸ P Peña, T Pitágoras : Efectividad antibacteriana "in vitro" del extracto etanólico de Rosmarinus officinalis (romero) sobre flora salival. Universidad Nacional Mayor de San Marcos 2013.

⁹ MCA Mateus: Una mejor manera de eliminar el Biofilm Bucodental, causante de la enfermedad Periodontal y la Peri-implantaria

¹⁰ G. Pini-Prato, et al: Tratamientos de los abscesos periodontales agudos mediante un abordaje de descontaminación del biofilm: estudio de casos. Rev. inter. de Odontología Restauradora y Periodoncia 2016;146-156.

¹¹ KARAN, S; FATEMEH, K; ALI, F;TATIANA,K.et al. Exploring Mechanisms of Biofilm Removal. En: HHS Public Access. Abril. 2016.Vol.6, N°.4, p. 1-9.

¿Cuál es el componente activo responsable de su acción sobre los microorganismos causantes de patologías endodónticas?

3.2 JUSTIFICACION

López Ma et al ¹², reportó en su estudio la capacidad de HybenX para desecar la superficie del biofilm y eliminarlo, lo que se tradujo en una reducción de la carga bacteriana total y en la cantidad de microorganismos del complejo rojo, esto, puede explicar la eficacia de la descontaminación y subsecuentes mejoras clínicas en casos de Mucositis y de Periimplantitis grave, donde fue utilizado el Hyben X para la descontaminación de la superficie de implantes dentales permitiendo la futura regeneración ósea.

Bracke J et al, hace mención a la utilización del HybenX como un coadyuvante en la eliminación mecánica del biofilm microbiano oral de las superficies de los tejidos durante la terapia de raspado y alisado radicular en pacientes con Periodontitis crónica severa ¹³. Porter et al, en el 2009 demostró que con la utilización de HybenX disminuía la sintomatología dolorosa y duración de la Estomatitis aftosa recurrente ¹⁴; en ambos casos e observo ausencia de ADN bacteriano y la inhibición de mediadores inflamatorios. Basta la aplicación tópica del producto por unos pocos segundos para destruir los agentes patógenos y la matriz del biofilm,

¹² Lopez MA, Andreasi Bassi M, Confalone L, Silvestre F, Arcuri C - Oral Implantol (Rome) - The treatment of peri-implant diseases: a new approach using hybenx as a decontaminant for implant surface and oral tissues. July 1, 2016; 9 (3); 106-114.

¹³ Bracke J, Basara M, Savord E, Dunaway A, Watkins M - J. Biol. Regul. Homeost. Agents - pilot evaluation of a simple adjunctive method for improved removal of oral biofilm during conventional scaling and root planing therapy. July 1, 2015; 29 (3 suppl 1); 6-9.

¹⁴ Porter SR, Al-Johani K, Fedele S, Moles DR : Randomised controlled trial of the efficacy of HybenX in the symptomatic treatment of recurrent aphthous stomatitis - Oral Dis - March 1, 2009; 15 (2); 155-61.

reduciendo el dolor, la inflamación y el sangrado sin producir ninguna reacción sobre el tejido sano, ya que se trata de un agente selectivo.¹⁵

La literatura reporta los efectos positivos del Hyben X en campos como la periodoncia, implantología y estomatología, pero es importante ampliar el poco conocimiento que existe en el campo de la endodoncia, ampliando así la utilización de sustancias que puedan ser aplicadas como irrigantes en el campo de la endodoncia, manteniendo a la Universidad de Cartagena a la altura de los tiempos.

4. ENSAYOS PRELIMINARES

4.1 MEDIO DE CULTIVO

Para el cultivo se utilizó agar sangre, el cual se realizó de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Luego de preparado el medio fue esterilizado en autoclave una temperatura de 121°C. Por 15 minutos y se mantuvo en baño maría hasta alcanzar una temperatura entre 48-50°C. Posteriormente fue repartido en las placas de Petri; el espesor del mismo debió oscilar entre 3 y 5 mm.

4.2 TOMA DE MUESTRA.

La muestra se tomó de tejido necrótico presente en el interior del conducto de OD# 65 con diagnóstico radiográfico previo de Periodontitis apical Asintomática.

Primero se realizó una profilaxis en la superficie dental, se realizó aislamiento del campo de trabajo para posterior apertura con fresa redonda de carburo N. 2, antes de realizar instrumentación en el interior del conducto se realiza la toma del paquete vasculonervioso con conos de papel y lima # 15 previamente esterilizada, se depositaron en un tubo eppendorf con VGMAIII como medio de transporte.

¹⁵ Mancini EA, Pini Prato GP.: Procedimiento de descontaminación del biofilm para el tratamiento del absceso periodontal agudo y la periimplantitis. Rev Asoc Odontol Argent 2016;104:79-85.

4.3 SIEMBRA Y PROCESAMIENTO

Se realizó siembra por estriado en la superficie de la placa de agar y se llevó a la incubadora de anaerobiosis durante 48 horas a una temperatura de 35-37°C .

5. MATERIALES Y METODOS

5.1 METODOLOGIA

Se realizó un estudio descriptivo experimental in vitro no probabilístico, en el que se diluyo el Hyben X. Para determinar en qué concentración se da su acción bactericida.

5.2 CRITERIOS DE SELECCIÓN Y CONSIDERACIONES ÉTICAS

Para el presente estudio fueron incluidos dientes con diagnóstico de periodontitis apical sintomática y asintomática. Y no fueron tomados en consideración dientes con previo tratamiento endodónticas, dientes permanentes con ápice inmaduro, dientes cuyo paciente no autorice el procedimiento, pacientes menores de 18 años, y mujeres embarazadas.

CRITERIOS ÉTICOS

El presente estudio se realizó siguiendo las normas científico técnicas y administrativas para la investigación en salud, resolución No. 008430 de 1.993 emanada del Ministerio de Protección social en su título II Capítulo I, sobre los aspectos éticos de la investigación en humanos, Artículos del 5 al 11 y Artículos del 14 al 16; además del título IV Capítulo I sobre la investigación con microorganismos patógenos o material biológico que pueda contenerlos, Artículos 64 y 65, Las instituciones investigadoras en las que se realice investigación con microorganismos patógenos o material biológico que pueda contenerlos deberá: Contar con las instalaciones y equipo de laboratorio de acuerdo con las normas técnicas, que al efecto emita este Ministerio, que garanticen el manejo seguro de tales gérmenes . El proceso microbiológico del estudio se realizó en el laboratorio básico de microbiología de la Facultad de química y farmacia de la Universidad de

Cartagena, la cual cumple con los requisitos que señalan los artículos previamente mencionados. Para tal cumplimiento, solo se utilizó tejido pulpar necrótico, para fines investigativos, sin toma, ni manipulación de material genético. Todo esto posterior a la firma de un consentimiento informado, donde claramente conste su voluntad donar el tejido pulpar necrótico.

5.3 INSTRUMENTOS

- Concentración mínima inhibitoria (MIC): Concentración mínima a la que la solución irrigante inhibe el crecimiento bacteriano / variable cuantitativa / Nivel de medición: Razón / Unidad de medida: ppm.
- Concentración mínima bactericida (MBC): A partir de la MIC se evalúa si la actividad antibacteriana es bactericida o bacteriostática / variable cualitativa / Nivel de medición: nominal / Unidad de medida: Bactericida, Bacteriostática.
- Inhibición de biofilm: Proporción de microorganismos vivos y muertas sobre la superficie radicular posterior al tratamiento con la solución irrigante / variable cualitativa / Nivel de medición: ordinal / Unidad de medida: Actividad baja (<25% de bacterias muertas), Actividad moderada (25 – 75% de bacterias muertas), Actividad alta (>75% de bacterias muertas)

5.4 PREPARACIÓN DE MATERIALES.

8 tubos de ensayo

2 frascos de 200 ml con tapa

1 frasco de 1 Lt. con tapa con agua destilada

1 gradilla

1 jarra de anaerobiosis

Primero se procedió al lavado de los materiales a utilizar con jabón enzimático, después se colocaron los materiales previamente lavados y secados al interior del autoclave y se procedió a realizar la esterilización del material a 121°C por 45 minutos. (*Figura 1*).



Figura 1: Materiales previamente lavados y esterilizados

5.5 PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO

Primero se realizó la fórmula o conversión de cuánto caldo nutrición se utilizaría para la preparación de los medios. Para el medio nutritivo de Trypticase de soya (TSA) se utilizaron 0.3mg disueltos en 100ml de agua destilada que se encontraba en un frasco anteriormente esterilizados (30 mg x 1 Lt, según indicación del fabricante) (*Figura 2*); y de Luria Broth (LB) se utilizaron 1.55mg disueltos en 100 ML de agua destilada que se encontraba un frasco previamente esterilizado (15.5 mg x 1 Lt, según indicación del fabricante). (*Figura 3*)



Figura 2: Preparacion medio nutritivo de Trypticasa de soya (TSA)

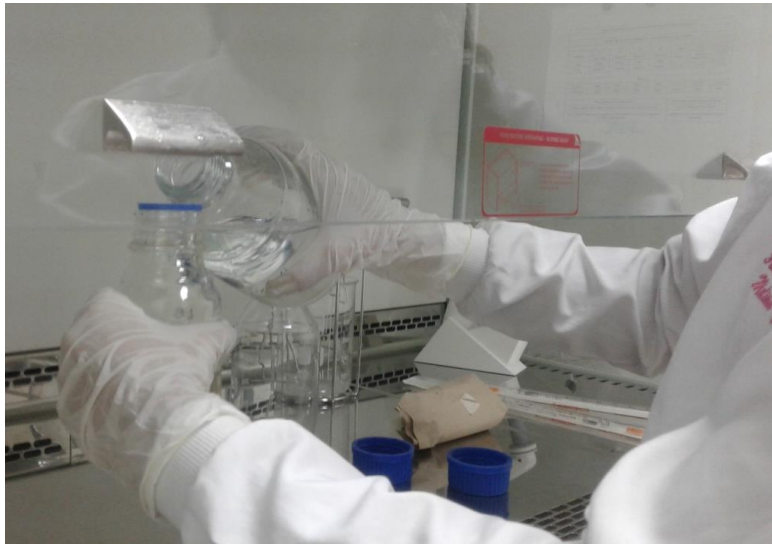


Figura 3: Prepracion medio nutritivo Luria Broth (LB)

Después de esto los frascos cargados con los medios de cultivos se le colocaron sus tapas previamente esterilizadas y se llevaron a él autoclave a 121 ° C por 45 minutos. (Figura 4)



Figura 4: Esterilización de medios de cultivo

Al cabo de 45 minutos se sacaron del autoclave los frascos con los medios de cultivo y se llevaron a la cabina de UV (*Figura 5*), con ayuda de una pipeta eléctrica de alta capacidad 0.1 - 100 ml se tomaron 10ml de TSA y se depositó en un tubo de ensayo previamente rotulado con el nombre del medio, inmediatamente después de depositado el medio en el tubo de ensayo se colocaba un tapón estéril al tubo, este procedimiento se repitió en los 3 tubos de ensayo designados para el TSA, se realizó el mismo procedimiento con el medio LB, teniendo en total 4 tubos de ensayo que contenían TSA y 4 tubos que contenían LB. (*Figura 6*)

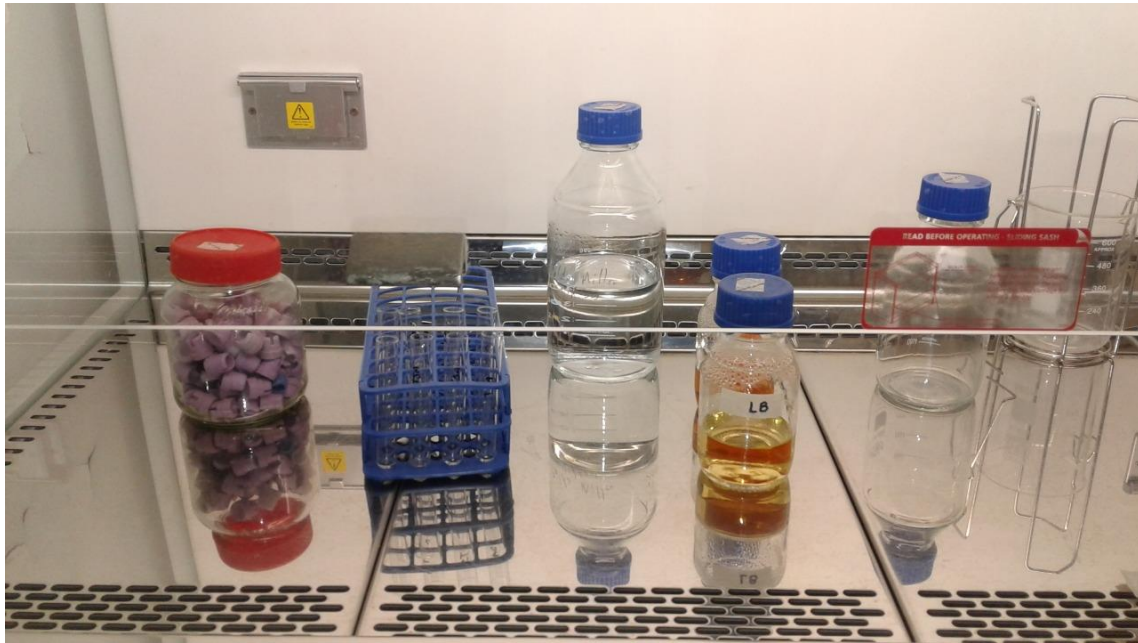


Figura 5: Materiales y medios de cultivo en cabina UV



Figura 6: pipeta eléctrica de alta capacidad 0.1 - 100 ml para depositar edios de cultivo en tubos de ensayo.

5.6 PROTOCOLO DE TOMA DE MUESTRA

1. Toma de radiografías de OD# 11(confirmación de Diagnostico periapical)
(Figura 7).



Figura 7: Periodontitis apical asintomática

2. Profilaxis coronal, desinfección con solución yodada de los tejidos bucales y de encía alrededor del sitio de muestra.
3. Selección de la grapa según diente por aislar, protección de encía con vaselina, aislamiento absoluto del diente, apertura cameral según parámetros de endodoncia, iniciando con fresa redonda esterilizada en autoclave (calibre según diente para trabajar), una vez que se logra penetrar a la cámara se realiza diseño y conformación de la cavidad.
(Figura 8).¹⁶¹⁷

¹⁶ Evaluación de algunas variables en la síntesis de arcillas pilarizadas y su impacto en la oxidación de fenol en medio acuoso diluído. Alejandro Pérez, Rafael Molina, Sonia Moreno, Evaluación de algunas variables en la síntesis de arcillas pilarizadas y su impacto en la oxidación de fenol en medio acuoso diluído. Rev. Colomb. Quím., 40(3) (2011), 321-336 .



Figura 8: Apertura y conformación de cavidad

4. Toma de la muestra con puntas de papel, previamente esterilizadas, se lleva la punta de papel al tercio apical del conducto y se mantiene en el interior de este por 1 minuto.^{18 19}.(Figura 9)

¹⁷ Extruidos de AIFe-PILC en la oxidación catalítica de fenol, Nancy R. Sanabria, Rafael A. Molina, Sonia Moreno, Extruidos de AIFe-PILC en la oxidación catalítica de fenol, Revista Colombiana de Química, V.39, No. 1 (2010) 73-84 .

¹⁸ Chugal et al . Microbial Flora Residing at Apical Portion of Infected Root Canals. Clinical Reserch. JOE — Volume 37, Number 10, October 2011

¹⁹ R.T. Gergova et al. Disinfection methods against biofilms. Antimicrobial activity of different disinfection methods against biofilms in root canals. Journal of Investigative and Clinical Dentistry (2016), 7, 254–262



Figura 9: Toma de la muestra con puntas de papel estéril

5.7 PROTOCOLO MICROBIOLÓGICO

1. La muestra del paquete vasculonervioso se tomó con puntas de papel de los dientes que cumplían con los requisitos de inclusión, se colocara en tubo de ensayo con caldo nutritivo de TSA y LB (*Figura 10*). La muestra se colocaron en una jarra de anaerobiosis y se incubaron a 37°C por 24 horas para el aislamiento de coccus y de Actinomyces, identificados por reconocimiento de las colonias por sus características morfológicas.²⁰

²⁰ Ghivari SB, Bhattacharya H, Bhat KG, Pujar MA. Antimicrobial activity of root canal irrigants against biofilm forming pathogens- An in vitro study. J Conserv Dent 2017;20:147-51.

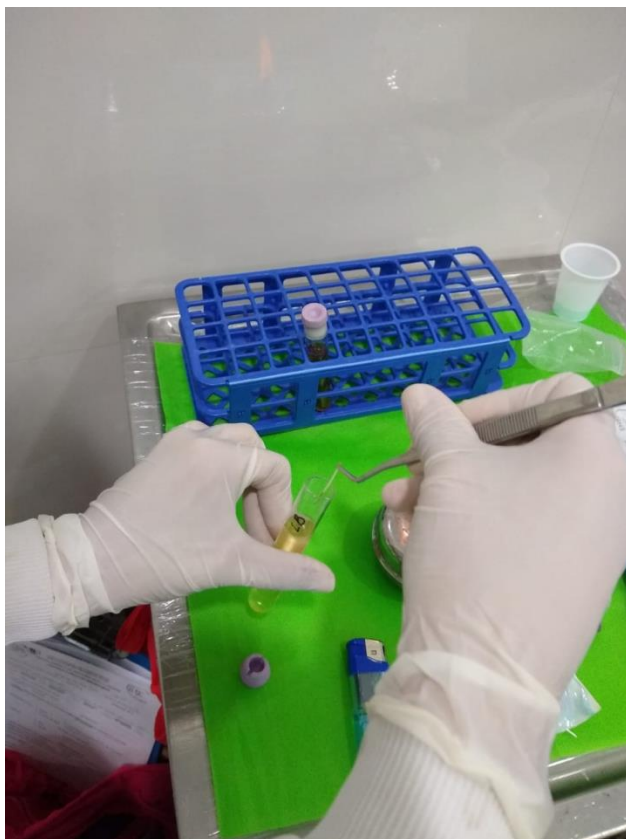


Figura 10: muestra del paquete Vasculonervioso se colocara en tubo de ensayo con caldo nutritivo de TSA y LB

5.8 PREPARACIÓN DE SOLUCIONES DE TRABAJO A DIFERENTES CONCENTRACIONES

Se tomó el producto HybenX® partiendo de una concentración del 100% y se realizaron 7 diluciones seriadas hasta llegar al 1,562%.

5.9 DETERMINACIÓN DE CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI)

La concentración mínima inhibitoria se determinó igualmente mediante la técnica de microdilución en placas de 96 pozos. Para esto la solución de HybenX® se diluyó seriadamente en 7 concentraciones (100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,56%). Para el presente ensayo también se tuvieron en cuenta controles positivos (100µl de inóculo). .

Las placas se incubaran a 37°C bajo condiciones de aerobiosis durante 24 horas. La menor concentración HybenX que inhibió significativamente el crecimiento bacteriano se consideró como MIC.

6. ANALISIS ESTADISTICO

Los resultados obtenidos en la evaluación de crecimiento bacteriano, actividad bactericida y bacteriostática, fueron analizados y graficados utilizando el software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) versión 20 (IBM®), por medio del cual se realizó un análisis descriptivo en donde obtuvimos frecuencias y porcentajes de los estadísticos previamente descritos. (Anexo A. tablas arrojadas por el software SPSS)

7. RESULTADOS

Se tomó el producto HybenX® partiendo de una concentración del 100% y se realizaron 7 diluciones seriadas hasta llegar al 1,562%. (Figura 11)(Figura 12)

VALOR	1	2
A	50ul de Inoculo + 50ul de HybeX al 100%	50ul de Inoculo + 50ul de HybeX al 6,25%
B	50ul de Inoculo + 50ul de HybeX al 50%	50ul de Inoculo + 50ul de HybeX al 3,125%
C	50ul de Inoculo + 50ul de HybeX al 25%	50ul de Inoculo + 50ul de HybeX al 1,562%
D	50ul de Inoculo + 50ul de HybeX al 12,5%	100ul de Inoculo

Figura 11: Disoluciones del Hyben X

Dilucion Hyben X	V1 C1 = V2 C2
50ul de HybeX al 100%	50ul de HybeX al 100%
50ul de HybeX al 50%	50ul de Hybenx + 50ul de agua destilada
50ul de HybeX al 25%	50ul de Hybenx + 150ul de agua destilada
50ul de HybeX al 12,5%	50ul de Hybenx + 350ul de agua destilada
50ul de HybeX al 6,25%	50ul de Hybenx + 750ul de agua destilada
50ul de HybeX al 3,125%	50ul de Hybenx + 1550ul de agua destilada
50ul de HybeX al 1,562%	50ul de Hybenx + 3150ul de agua destilada

Figura 12: Determinacion de las concentraciones del Hyben X

La reconstitución y cultivo del Bifilm endodóntico en periodontitis apical se observó positivamente en las cajas de Petri. (*Figura 13*)

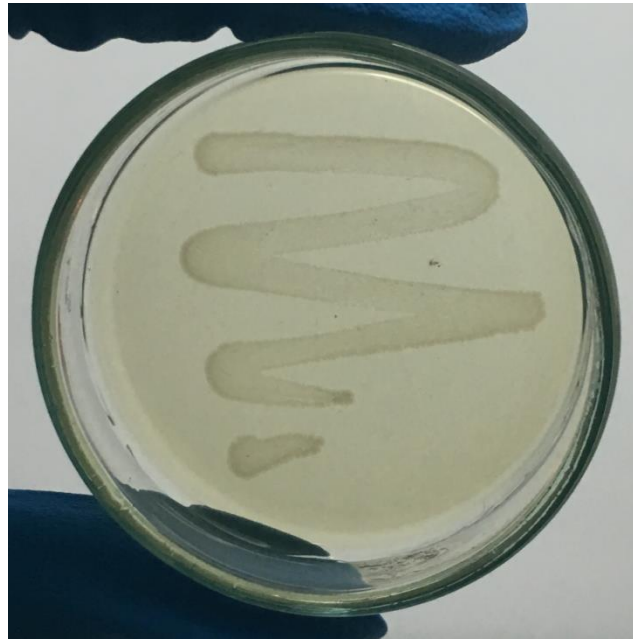
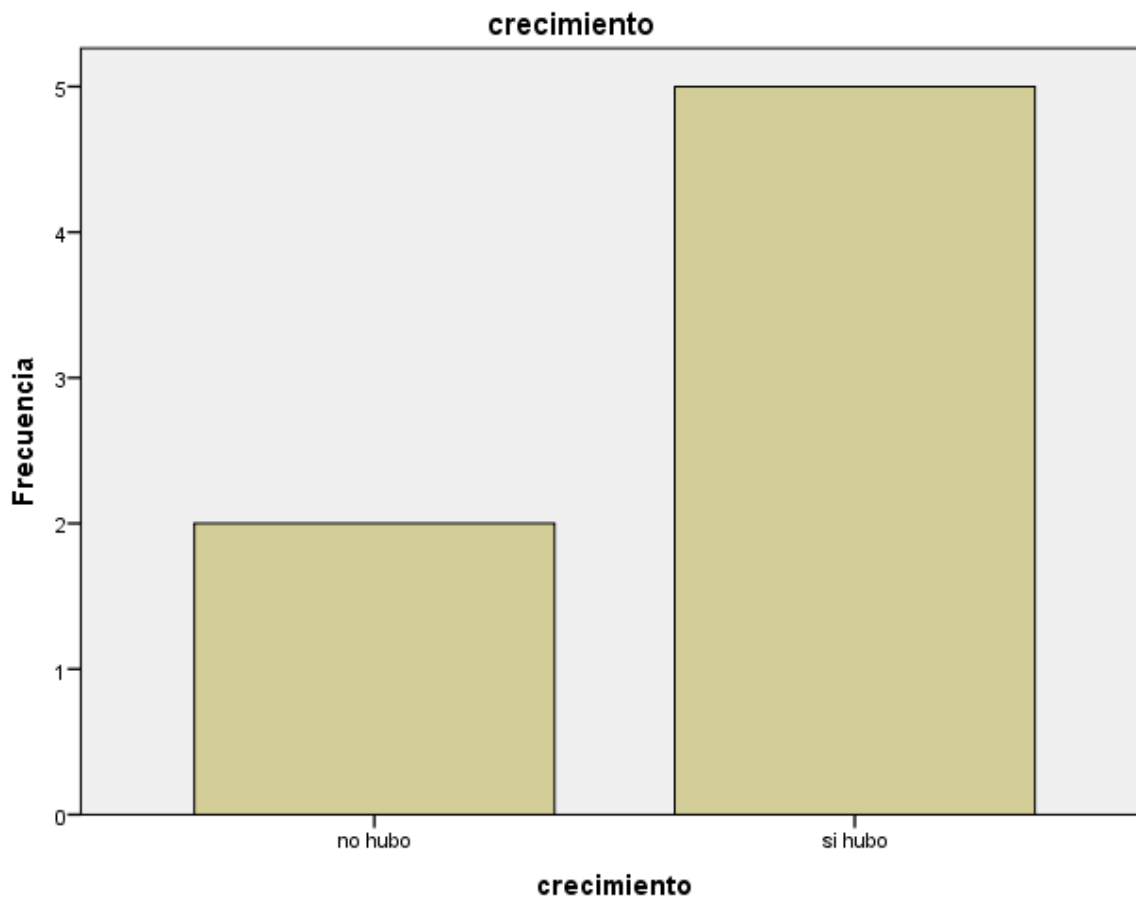


Figura 13: Crecimiento bacteriano positivo

Se identificaron por medio de reconocimiento de características morfológicas de cepas los siguientes géneros de bacterias Gram (-) (*Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Tannerella*, *Treponema*, *Campylobacter* y *Veionella*) y Gram (+) (*Actinomyces*, *Peptostreptococcus*, *Streptococcus* y *Eubacterium*). Posteriormente al realizar una curva de crecimiento bacteriana, se pudo observar el comportamiento de la bacteria en el periodo de incubación. El periodo de adaptación de la bacteria es aproximadamente a las 4 horas, desde donde se inicia la fase exponencial de crecimiento (*Figura 14*) que alcanza el pico máximo a las 12 horas. Desde este punto, inicia la fase estacionaria hasta las 18 horas y posterior muerte bacteriana.



Con este resultado se puede afirmar, que el tiempo de incubación para la medición de las pruebas de sensibilidad bacteriana y determinación de la concentración mínima inhibitoria, debe hacerse a las 12 horas.

Al realizar la prueba de sensibilidad bacteriana con la metodología anteriormente explicada, se determinó que HybenX en las concentraciones referenciadas por el fabricante al 100%, es efectivo frente al Biofilm endodontico y fueron idóneos para realizar los ensayos posteriores de Concentración Mínima Bactericida y Concentración Mínima Bacteriostática. Para esto se consideró que si las colonias frente al HybenX® al 100% no mostraba sensibilidad, se descartaría el producto.

Basándose en los resultados anteriores, referente a la evaluación de la sensibilidad bacteriana, se procedió a realizar las diluciones seriadas de HybenX®, ya que mostró actividad inhibitoria al 100% sobre el biofilm endodontico.

La metodología se aplicó sobre la bacteria, tomando las 7 concentraciones oscilantes entre 100% hasta 1,562%. En la evaluación de la MIC de HybenX[®], se encontró que no hay diferencia significativa con la referencia de crecimiento a una concentración de 100%, 50% y 25%.

Se determinó que la solución de HybenX[®] tiene propiedades bactericidas a concentraciones del 100% y 50% y actividad bacteriostática al 25%.(Figura 15)(Figura 16)(Figura 17)

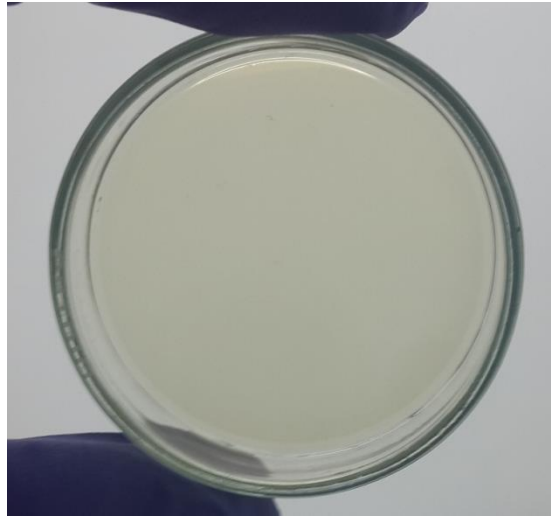


Figura 15; Concentracion minima bacterisida del HybenX a 100%

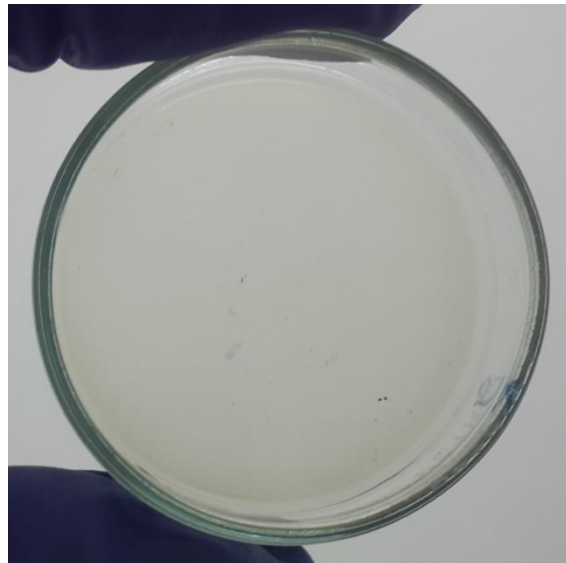


Figura 16. Concentracion minima bacterisida del Hyben a 50%

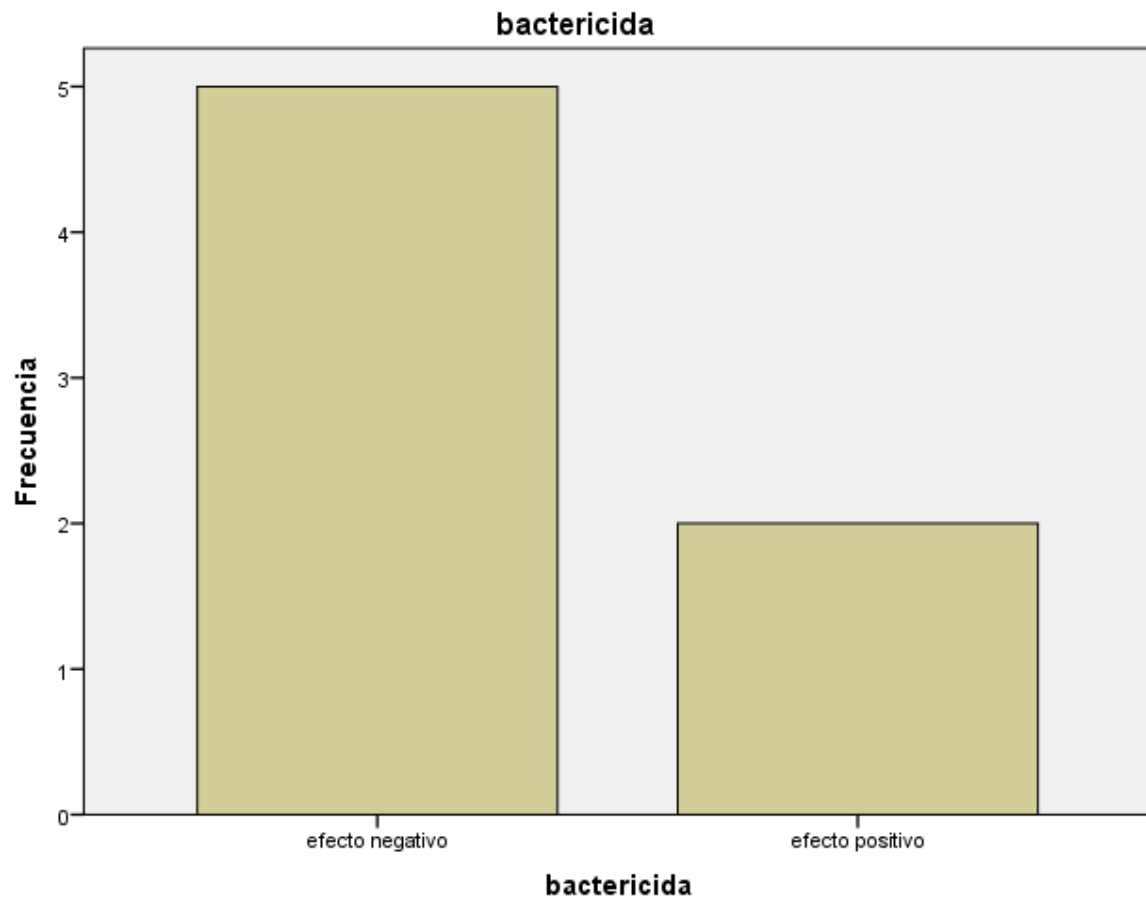


Figura 17: Concentracion minima bacteriostática del Hyben X al 25%

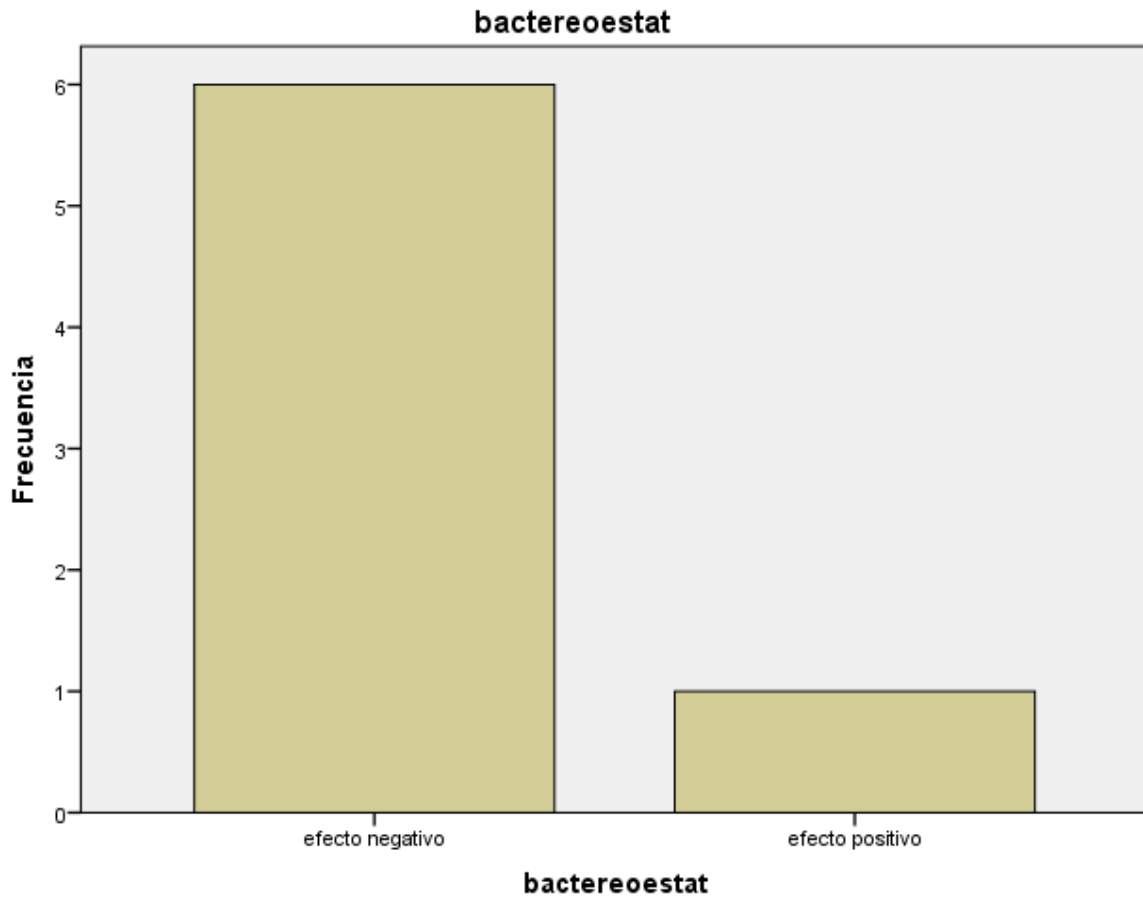
HybenX® en las concentraciones referenciadas por el fabricante al 100% es efectivo frente al biofilm edodontico en pacientes diagnosticados con Periodontitis apical.

El Biofilm de la Periodontitis apical presenta Sensibilidad a la solución de HybenX® en diferentes concentraciones.

HybenX® es bactericida sobre biofilm edodontico en pacientes diagnosticados con Periodontitis apical a concentraciones del 100% y 50%. (Figura 18).



HybenX[®] es bacteriostático sobre biofilm edodontico en pacientes diagnosticados con Periodontitis apical a concentraciones del 25%. (Figura 19).



8. DISCUSION

El objetivo del tratamiento de endodoncia es eliminar todos los tejidos vitales y necróticos, microorganismos y subproductos microbianos de sistema de conductos radiculares. Hay más de 700 microorganismos diferentes en el sistema de conductos radiculares; algunas de las especies bacterianas aún no han sido identificadas. Este objetivo se puede lograr mediante desbridamiento químico y mecánico de los conductos radiculares, las pruebas de laboratorio son el primer paso en el estudio de irrigantes.^{21 22}

²¹ Topbas C, Adiguzel O. Endodontic Irrigation Solutions: A Review. *Int Dent Res* 2017;7:54-61

Los resultados obtenidos en este estudio muestran las bacterias tomadas en muestras in vivo y cultivadas en incubadora de laboratorio nos acercan más a la realidad de la infección que está colonizando el órgano dentario del paciente, solo se necesitaron 24 horas para esperar el crecimiento de las colonias bacterianas, recordando que la infección es primaria se identificaron los siguientes géneros de bacterias Gram (-) (*Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Tannerella*, *Treponema*, *Campylobacter* y *Veionella*) y Gram (+) (*Actinomyces*, *Peptostreptococcus*, *Streptococcus* y *Eubacterium*).

En la actualidad existen publicaciones y artículos sobre diversos irrigantes radiculares y la efectividad de ellos en bacterias in vitro ATCC, estos estudios por supuesto basados en pruebas de laboratorio como el presente estudio sobre la efectividad antibacteriana del HybenX. Los resultados obtenidos en este estudio muestran que la solución de HybenX es bactericida sobre biofilm endodóntico en pacientes diagnosticados con Periodontitis apical a concentraciones del 100% y 50% y es bacteriostático sobre biofilm endodóntico en pacientes diagnosticados con Periodontitis apical a concentraciones del 25%.

La eficacia de la droga, la temperatura, la contaminación y la posible fuga del agente en la boca deben ser consideradas, mientras se trabajan in vivo.

Varios estudios han informado de la eficacia de las soluciones de irrigación para inhibir el crecimiento de biopelículas microbiana, A. Bahador ha estudiado TFDa con curcumina (CUR) y verde de indocianina (ICG) como fotosensibilizadores, TFDa tiene un alto potencial para la eliminación de *E. faecalis* (ATCC 29212) y es casi equivalente a las soluciones de irrigación de endodoncia aunque todavía no ha sustituido a las soluciones de irrigación de endodoncia convencionales. Así como este estudio del HybenX demuestra su capacidad para la eliminación de

²² NF. Mollashahi, E. Saberi, H. Karkehabadi. Evaluation of Cytotoxic Effects of Various Endodontic Irrigation Solutions on the Survival of Stem Cell of Human Apical Papilla. Iranian Endodontic Journal 2016;11(4): 293-29

bacterias que colonizan en el conducto radicular aún no ha sustituido la irrigación convencional.²³

Así mismo AR-Aranda García, JM Guerreiro-Tanomaru, NB-Faria Junior, GM Chávez-Andrade, RT Leonardo, M. Tanomaru-Filho y I. Bonetti-Filho Después de la preparación inicial, los canales de la raíz de 70 dientes humanos unirradiculares se inocularon con *E. faecalis* (ATCC 29212) y se incubó durante 21 días. Las muestras se dividieron en cinco grupos: Endox Plus / solución salina; 2,5% NaOCl / MTAD; 2,5% NaOCl /EDTA; Esta ex vivo estudio reveló que el sistema Endox Plus tenía la más débil eficacia antimicrobiana en comparación con riego con 2,5% de NaOCl en conjunción con MTAD y 2,5% NaOCl seguido de EDTA durante la preparación quimio-mecánica. El Sistema Endox no tuvo efecto antibacteriano adicional después de la irrigación con solución salina. Todos los grupos permitieron la recuperación de bacterias 7 días después del tratamiento. En comparación con este estudio de cultivo de bacterias se incubaron durante 24h y la eficacia del HybenX supera los porcentajes además de su efectividad en disoluciones menores.²⁴

Sundqvist (1992) caracterizó la microbiota de los conductos radiculares de dientes con lesiones periapicales según su frecuencia y proporción, analizando las asociaciones entre sus componentes. En aquella oportunidad fue constatada una correlación positiva entre *F. nucleatum* y *Peptostreptococcus micros*, *Porphyromonas endodontalis*, *Selenomonas sputigena*, *Campylobacter rectus*, *Prevotella intermedia* y *P. micros*, *P. anaerobius* y *Eubacterium* sp. Y *Peptostreptococcus* sp., *P. endodontalis* y *F. nucleatum*, *E. alactolyticum* y *C. rectus*. La constatación de esas interacciones permitió relacionar el

²³ M. Pourhajibagher , N. Chiniforush , S. Shahabi , M. Palizvani, A. Bahador Antibacterial and Antibiofilm Efficacy of Antimicrobial Photodynamic Therapy Against Intracanal Enterococcus faecalis: An In Vitro Comparative Study with Traditional Endodontic Irrigation Solutions. Journal of Dentistry, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran (2018; Vol. 15, No. 4

²⁴ Aranda-Garcia et al. Antibacterial effectiveness of Endox Plus. International Endodontic Journal, 45, 1091–1096, 2012

elevado predominio de esos microorganismos en el conducto radicular con el fenómeno sinérgico. Comparado a lo encontrado en el presente ensayo, existe similitud ya que se identificaron los siguientes géneros de bacterias Gram (-) (*Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Tannerella*, *Treponema*, *Campylobacter* y *Veionella*) y Gram (+) (*Actinomyces*, *Peptostreptococcus*, *Streptococcus* y *Eubacterium*).²⁵

D. Hoedke, et al., analizaron el efecto antibacteriano de la terapia fotodinámica (PDT) en combinación con varios protocolos de riego en un biopelícula multiespecífica en canales de la raíz ex vivo, en donde utilizaron dientes humanos previamente extraídos, los cuales se inocularon con suspensiones bacterianas de *E. faecalis*, *Streptococcus oralis* (*S. oralis*) y *Prevotella intermedia* (*P. intermedia*), los cuales fueron aislados de un conducto radicular infectado ; después del riego usando 0,9% de NaCl estéril, 1% de NaOCl, un aclarado intermedio con etanol (2-Propanol 70%, Emprove exp; Merck KGaA, Darmstadt, Alemania) fue seguida de riego final con 2% de CHX se tomaron muestras de dentina, se tomaron muestras de dentina con puntas de papel, las cuales se diluyeron en placas de cultivo condiciones anaeróbicas durante 5 días a 37 ° C y posterior utilización de microscopia de barrido para la visualización de la biopelícula. Aunque D. Hoedke no utilizó la misma solución irrigadora que en el presente estudio, se demostró la efectividad de soluciones irrigadoras como el NaOCl , el CHX y el Hyben X combinados con protocolos de riego son métodos eficaces para la reducción bacteriana en el interior de los conductos radiculares.²⁶

²⁵ Pietroski Grando C, Ferreira Martinez E, Eduardo Fontana C, Pedro Rocha DG, Pessoa Stringheta C, da Silveira Bueno CE. Effectiveness of Sodium Hypochlorite plus EDTA Compared with Peracetic Acid in Removing Smear Layer and Killing *Enterococcus faecalis*. Iran Endod J. 2019;14(1): 56-62. Doi: 10.22037/iej.v14i1.22190

²⁶ D. Hoedke et al. Effect of photodynamic therapy in combination with various irrigation protocols on an endodontic multispecies biofilm ex vivo. International Endodontic Journal, 51, e23–e34, 2018.

Estudios más recientes relacionados con el hybenx tenemos a e. Covo, k. Abud, I. Bustos en el 2017, ellos realizaron un estudio experimental *in vitro*, en el que se determinó la actividad antibacteriana del hybenx® sobre *e. Faecalis* (atcc 29212 ®™). Para estudiar la susceptibilidad *in vitro* de *e. Faecalis* se empleó la técnica de microdilución en caldo avalada y estandarizada por clinical and laboratory standards institute (clsi) del año 2014.

Aunque en este estudio no se utilizó la misma solución irrigadora, ni la misma comunidad bacteriana que en los estudios previamente descritos, se demostró la efectividad de soluciones irrigadoras como el NaOCl , el CHX y el Hyben X combinados con protocolos de riego son métodos eficaces para la reducción bacteriana en el interior de los conductos radiculares. ²⁷

²⁷ L. Awawdeh, A. Jamleh, M. Beitawi. The Antifungal Effect of Propolis Endodontic Irrigant with Three Other Irrigation Solutions in Presence and Absence of Smear Layer: An In Vitro Study. Iranian Endodontic Journal 2018;13(2): 234-239.

9. CONCLUSIONES

En la muestra tomada de paciente diagnosticado con Periodontitis apical asintomática se identificaron los siguientes géneros de bacterias *Gram (-)* (*Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Tannerella*, *Treponema*, *Campylobacter* y *Veionella*) y *Gram (+)* (*Actinomyces*, *Peptostreptococcus*, *Streptococcus* y *Eubacterium*).

Se observó actividad bactericida del Hyben X frente a Biofilm endodontico a concentraciones del 100% y 50%.

Se observó actividad bacteriostática del Hyben X frente a Biofilm endodontico en concentración de 25%.

10. RECOMENDACIONES

Realiza estudios de PCR con la cepas clínicas predominantes la muestra aislada en pacientes diagnosticados con periodontitis apical sintomática y asintomática de manera separada, para evaluar los factores de virulencias que presentan las cepas, como una investigación que aporte nuevos datos para el entendimiento de las diferentes patologías pulpares periapicales.

Realizar un estudio para determinar la capacidad de disolución de tejidos orgánicos del Hyben X

Realizar estudios que determinen la tensión superficial del Hyben X en comparación con el NaOCl

BIBLIOGRAFIA

1. L. Wang et al. *Novel bioactive root canal sealer to inhibit endodontic multispecies biofilms with remineralizing calcium phosphate ions / Journal of Dentistry* 60 (2017) 25–35
2. Abub Kare. Bustos Lorena: *Actividad antibacteriana de hybenx® sobre enterococcus faecalis (atcc 29212 ®™). Estudio in vitro.*
3. Lázaro Sarduy Bermúdez, María Elena González Díaz: *La biopelícula: una nueva concepción de la placa dentobacteriana. Biofilm: a new conception of dentobacterial plaque. Medicentro Electrónica vol.20 no.3 Santa Clara jul.-set. 2016*
4. Guilarte, C. , Perrone, M. : *Microorganismos de la placa dental relacionados con la etiología de la periodontitis. Volumen 42 Nº 3 / 2004.*
5. Ackermans F., Klein J.P., and Frank R.M.: *Ultrastructural localization of immunoglobulins in carious human dentine. Arch Oral Biol* 1981; 26: pp. 879.
6. Á Rodríguez, et al: *Prevalencia de Enterococcus faecalis de pacientes que asistan a consulta de endodoncia. 2016*
7. Giorgos N., et al: *Comparison of Bacterial Community Composition of Primary and Persistent Endodontic Infections Using Pyrosequencing. Journal of Endodontics , 2015-08-01, Volúmen 41, Número 8, Páginas 1226-1233.*
8. P Peña, T Pitágoras : *Efectividad antibacteriana "in vitro" del extracto etanólico de Rosmarinus officinalis (romero) sobre flora salival. Universidad Nacional Mayor de San Marcos 2013.*
9. MCA Mateus: *Una mejor manera de eliminar el Biofilm Bucodental, causante de la enfermedad Periodontal y la Peri-implantaria*
10. G. Pini-Prato, et al: *Tratamientos de los abscesos periodontales agudos mediante un abordaje de descontaminación del biofilm: estudio de casos Rev. inter. de Odontología Restauradora y Periodoncia* 2016;146-156.

11. KARAN, S; FATEMEH, K; ALI, F; TATIANA, K. et al. *Exploring Mechanisms of Biofilm Removal*. En: HHS Public Access. Abril. 2016. Vol.6, N°.4, p. 1-9.
12. Lopez MA, Andreasi Bassi M, Confalone L, Silvestre F, Arcuri C - *Oral Implantol (Rome) - The treatment of peri-implant diseases: a new approach using hybenx as a decontaminant for implant surface and oral tissues*. July 1, 2016; 9 (3); 106-114.
13. Bracke J, Basara M, Savord E, Dunaway A, Watkins M - *J. Biol. Regul. Homeost. Agents - pilot evaluation of a simple adjunctive method for improved removal of oral biofilm during conventional scaling and root planing therapy*. July 1, 2015; 29 (3 suppl 1); 6-9.
14. Porter SR, Al-Johani K, Fedele S, Moles DR : *Randomised controlled trial of the efficacy of HybenX in the symptomatic treatment of recurrent aphthous stomatitis - Oral Dis - March 1, 2009; 15 (2); 155-61*.
15. Mancini EA, Pini Prato GP.: *Procedimiento de descontaminación del biofilm para el tratamiento del absceso periodontal agudo y la periimplantitis*. *Rev Asoc Odontol Argent* 2016;104:79-85.
16. *Evaluación de algunas variables en la síntesis de arcillas pilarizadas y su impacto en la oxidación de fenol en medio acuoso diluido*. Alejandro Pérez, Rafael Molina, Sonia Moreno, *Evaluación de algunas variables en la síntesis de arcillas pilarizadas y su impacto en la oxidación de fenol en medio acuoso diluido*. *Rev. Colomb. Quím.*, 40(3) (2011), 321-336 .
17. *Extruidos de AlFe-PILC en la oxidación catalítica de fenol*, Nancy R. Sanabria, Rafael A. Molina, Sonia Moreno, *Extruidos de AlFe-PILC en la oxidación catalítica de fenol*, *Revista Colombiana de Química*, V.39, No. 1 (2010) 73-84 .
18. Chugal et al . *Microbial Flora Residing at Apical Portion of Infected Root Canals*. *Clinical Reserch. JOE— Volume 37, Number 10, October 2011*
19. R.T. Gergova et al. *Disinfection methods against biofilms. Antimicrobial activity of different disinfection methods against biofilms in root canals*. *Journal of Investigative and Clinical Dentistry* (2016), 7, 254–262

20. Ghivari SB, Bhattacharya H, Bhat KG, Pujar MA. Antimicrobial activity of root canal irrigants against biofilm forming pathogens- An in vitro study. *J Conserv Dent* 2017;20:147-51.
21. Topbas C, Adiguzel O. Endodontic Irrigation Solutions: A Review. *Int Dent Res* 2017;7:54-61
22. NF. Mollashahi, E. Saberi, H. Karkehabadi. Evaluation of Cytotoxic Effects of Various Endodontic Irrigation Solutions on the Survival of Stem Cell of Human Apical Papilla. *Iranian Endodontic Journal* 2016;11(4): 293-29
23. M. Pourhajibagher , N. Chiniforush , S. Shahabi , M. Palizvani, A. Bahador Antibacterial and Antibiofilm Efficacy of Antimicrobial Photodynamic Therapy Against Intracanal *Enterococcus faecalis*: An In Vitro Comparative Study with Traditional Endodontic Irrigation Solutions. *Journal of Dentistry, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran* (2018; Vol. 15, No. 4
24. Aranda-Garcia et al. Antibacterial effectiveness of Endox Plus. *International Endodontic Journal*, 45, 1091–1096, 2012
25. Pietroski Grando C, Ferreira Martinez E, Eduardo Fontana C, Pedro Rocha DG, Pessoa Stringheta C, da Silveira Bueno CE. Effectiveness of Sodium Hypochlorite plus EDTA Compared with Peracetic Acid in Removing Smear Layer and Killing *Enterococcus faecalis*. *Iran Endod J.* 2019;14(1): 56-62. Doi: 10.22037/iej.v14i1.22190
26. D. Hoedke et al. Effect of photodynamic therapy in combination with various irrigation protocols on an endodontic multispecies biofilm ex vivo. *International Endodontic Journal*, 51, e23–e34, 2018.
27. L. Awawdeh, A. Jamleh, M. Beitawi. The Antifungal Effect of Propolis Endodontic Irrigant with Three Other Irrigation Solutions in Presence and Absence of Smear Layer: An In Vitro Study. *Iranian Endodontic Journal* 2018;13(2): 234-239.

Anexo A. TABLAS DE FRECUENCIAS

Crecimiento

	Frecuencia	Porcentaje
Válido no hubo	2	28,6
si hubo	5	71,4
Total	7	100,0

Bactericida

	Frecuencia	Porcentaje
Válido efecto negativo	5	71,4
efecto positivo	2	28,6
Total	7	100,0

Bacteriostático

	Frecuencia	Porcentaje
Válido efecto negativo	6	85,7
efecto positivo	1	14,3
Total	7	100,0

Anexo B. CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo _____, identificado con C.C _____ como aparece en el pie de mi firma, usuario del servicio que presta la Universidad de Cartagena por medio de la clínica integral del adulto I y II, autorizo a la facultad de Odontología a través de su equipo de docentes y estudiantes a realizar el plan de tratamiento expresado en la historia clínica No. _____.

El cual consiste en: ***uso de tejido pulpar necrótico, para fines investigativos, sin toma, ni manipulación de material genético.***

El propósito de esta ficha de consentimiento es proveer a los participantes en esta investigación una clara explicación de la naturaleza de la misma, así como de su rol en ella como participantes.

La presente investigación titulada: **“Determinación de la efectividad antibacteriana del Hyben X en diferentes concentraciones frente a biofilm endodóntico en pacientes diagnosticados con periodontitis apical”**, es realizada por los estudiantes Melissa Garay Lara y Daniela Zárate Severiche del pregrado de odontología de la Universidad de Cartagena bajo la dirección de los docentes:

El objetivo de este estudio es: Determinar la efectividad antibacteriana, mediante micro dilución de los diferentes concentraciones del Hyben X en biofilm endodónticas en pacientes diagnosticados con periodontitis apical.

Si usted accede a participar en este estudio, se le pedirá que done de manera voluntaria el tejido pulpar necrotico que se le será extraido por motivo de diagnostico de periodontitis apical. Este tejido será utilizados únicamente con fines investigativos. Los resultados obtenidos a partir de este trabajo de investigación serán consignados en un documento de proyecto de investigacion.

Yo _____ con C.C _____ acepto participar voluntariamente en esta investigación, con la donación de mi tejido pulpar necrótico.

Extraídos por motivo _____. He sido informado (a) del objetivo y de esta investigación y sus fines investigativos.

He sido informado de que puedo hacer preguntas sobre el proyecto en cualquier momento y que puedo retirarme del mismo cuando así lo decida, sin que esto acarree perjuicio alguno para mi persona. Entiendo que una copia de esta ficha de consentimiento me será entregada, y que puedo pedir información sobre los resultados de este estudio cuando éste haya concluido

Nombre del Participante (en letras imprenta)

Firma del Participante

Fecha